

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20220703001

http://www.yykxjz.cn/

张龙, 李刚, 王庆龙, 韩枫, 曲克明, 朱建新, 刘质浩, 汪鲁. 墨瑞鳕循环水养殖系统中不同生物膜反应器水处理效率及微生物群落对比分析. 渔业科学进展, 2023, 44(6): 214-224

ZHANG L, LI G, WANG Q L, HAN F, QU K M, ZHU J X, LIU Z H, WANG L. Comparative investigation of water treatment performance and microbial communities in different biofilm reactors of a recirculating aquaculture system for *Maccullochella peeli*. Progress in Fishery Sciences, 2023, 44(6): 214-224

墨瑞鳕循环水养殖系统中不同生物膜反应器 水处理效率及微生物群落对比分析*

张 龙¹ 李 刚¹ 王庆龙¹ 韩 枫¹ 曲克明²
朱建新^{2①} 刘质浩³ 汪 鲁^{3①}

(1. 全国水产技术推广总站 中国水产学会 北京 100125; 2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所
山东 青岛 266071; 3. 崂山实验室 山东 青岛 266237)

摘要 固定床生物膜反应器(fixed-bed biofilm bioreactor, FBBR)和移动床生物膜反应器(moving-bed biofilm reactor, MBBR)在养殖水体氨氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)和亚硝酸氮($\text{NO}_2^-\text{-N}$)污染控制中已有较为广泛的研究, 然而相关研究大多是在实验室完成的, 目前尚缺乏实际生产的循环水养殖系统(recirculating aquaculture system, RAS)中 FBBR 和 MBBR 水体净化效能的对比研究。因此, 本研究将 FBBR (弹性毛刷滤料)和 MBBR (PVC 多孔环滤料)并联接入实际生产的墨瑞鳕(*Maccullochella peeli*) RAS 中, 实现二者的同步连续运行(35 d), 考察了其出水水质变化和微生物群落结构。出水水质变化表明, FBBR 和 MBBR 中氨氧化能力的形成快于亚硝酸氧化能力, 硝化能力渐趋成熟, 可以有效控制养殖水体中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度, 但会导致养殖水体中硝酸氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)积累和 pH 下降; 单因素方差分析表明, FBBR 出水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度和 pH 与 MBBR 出水无显著差异, 两反应器的硝化效率相似。FBBR 和 MBBR 在微生物群落上的相同点在于: 优势菌门为变形菌门(Proteobacteria) (相对丰度分别为 69.42%和 86.92%), 优势菌纲为 γ -变形菌纲(γ -Proteobacteria) (40.71%和 63.36%)和 α -变形菌纲(α -Proteobacteria) (26.58%和 21.74%), 优势菌属为不动杆菌属(*Acinetobacter*) (27.50%和 53.29%); 硝化菌由亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)和硝化螺菌属(*Nitrospira*)构成; 硝化螺菌属的相对丰度远高于亚硝化单胞菌属, 两反应器中可能存在完全氨氧化菌。两反应器在微生物群落上的不同点在于 FBBR 微生物群落的丰富度和多样性以及硝化菌的相对丰度均高于 MBBR。本研究可以为 RAS 养殖水体净化提供技术支撑, 助推循环水养殖模式的推广应用。

关键词 循环水养殖系统; 固定床生物膜反应器; 移动床生物膜反应器; 硝化反应; 微生物群落
中图分类号 S966 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2023)06-0214-11

* 国家重点研发计划(2020YFD0900103)、山东省自然科学基金博士基金(ZR2019BC026)、国家自然科学基金青年基金(32102854)和青岛海洋科学与技术试点国家实验室科研启动项目(JCZX202029)共同资助。张 龙, E-mail: zhanglong712504@163.com

① 通信作者: 朱建新, 研究员, E-mail: zhujx@ysfri.ac.cn; 汪 鲁, 副研究员, E-mail: lwang@qnlm.ac

收稿日期: 2022-07-03, 收修改稿日期: 2022-08-16

随着水产养殖业向高效、节能、绿色方向发展, 循环水养殖模式日益受到研究者和从业者的关注。循环水养殖系统(recirculating aquaculture system, RAS) 主要由生物养殖和水质净化两部分组成, 养殖用水经过水质净化后循环到养殖池重复利用, 不仅可以降低水资源的消耗、减少水产养殖的污染物排放, 还可以实现水质的精准化和智能化调控、有效提高养殖密度, 从而提升水产养殖的经济效益, 降低其环境风险(Verdegem *et al.*, 2006; Zohar *et al.*, 2005)。在水产养殖过程中, 饲料中的氮通过饵料残留、养殖生物排泄等途径进入水体, 并在微生物的作用下进行形态转化(Stewart *et al.*, 2006)。由于游离氨和亚硝酸盐对养殖生物具有很强的毒性(Schuler *et al.*, 2010; 樊海平等, 2018), 其在养殖水体中的浓度水平需要得到严格控制。因此, 有效去除氨氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)和亚硝酸氮($\text{NO}_2^-\text{-N}$)成为 RAS 水质净化模块的必备功能。

相较于物理和化学处理方法, 基于微生物硝化作用的生物处理法可以将 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 转化为低毒性的硝酸氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$), 具有处理效果好、运行成本低、无二次污染等优点, 已经被用于生活污水、工业废水、农业废水、地下水等多种类型水体的净化处理(Kuhn *et al.*, 2010)。与基于微生物悬浮生长的活性污泥法相比, 基于微生物附着生长的生物膜法具有运行简单、易于维护管理、抗冲击负荷能力强、动力消耗少等特点(刘晃等, 2008), 更适用于污染物负荷较低且波动较大的循环水处理。迄今为止, 国内外研究者已经开发出了多种类型的生物膜工艺, 如固定床生物膜反应器(fixed-bed biofilm reactor, FBBR)、移动床生物膜反应器(moving-bed biofilm reactor, MBBR)、流化床生物膜反应器、生物膜转盘、膜曝气生物膜反应器和电化学生物膜反应器等(Crab *et al.*, 2007)。

FBBR (如普通生物滤池、高负荷生物滤池、曝气生物滤池等)在养殖水体 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 污染控制中已经得到了较为广泛的研究和应用。王光玉等(2009)通过 FBBR 连续运行可以将进水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度控制在 0.6 mg/L 以下, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率接近 100%。李倩等(2017)将 FBBR 接入罗氏沼虾 RAS 中, 经过 34 d 自然挂膜启动后, 使得养殖池中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 始终保持在较低水平。张健龙等(2017)探究了凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)循环水养殖塘 FBBR 微生物的多样性, 发现 FBBR 各部位微生物物种多样性丰富, 且微生态系统稳定, 可有效维持 RAS 水质。近些年来, MBBR 因其不易堵塞、无需反冲、比表面积大等特点逐渐成为循环水养殖系统水质净化领域的研究热点。赵越等(2018)将 MBBR 引入到大西洋鲑(*Salmo*

salar) RAS 中, 并考察了 MBBR 的最佳池体尺寸、填料填充率、曝气量等重要参数。目前, 关于 RAS 中 FBBR 和 MBRR 的对比研究仍然较为有限, 而且对于二者在循环水处理中表现的优劣尚无定论(Greiner *et al.*, 1998; Guerdat *et al.*, 2010; Suhr *et al.*, 2010; Pedersen *et al.*, 2015)。Fernandes 等(2017)研究表明, 虽然 FBBR 和 MBBR 都可以将虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*) RAS 水体中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度控制在较低水平, 但 MBBR 处理的水体中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度明显高于 FBBR。Pulkkinen 等(2019)将二级串联 FBBR 和二级串联 MBBR 用于虹鳟 RAS 的循环水净化, 结果显示, 经过 2 种反应器处理后的水体中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度无明显差别, 但前者处理的水体中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度高于后者; 二级串联 MBBR 的硝化速率高于二级串联 FBBR。Pedersen 等(2015)考察了并联于虹鳟 RAS 中的 FBBR 和 MBBR 的水质净化性能, 结果显示, FBBR 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 表面比去除速率明显大于 MBBR; FBBR 可以去除水体中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$, MBBR 则会产生 $\text{NO}_2^-\text{-N}$; FBBR 对于消毒剂的干扰具有更强的抵抗力。而且, 相关研究大多在小试或者中试规模的模拟 RAS 中完成, 基于实际生产的 RAS 中 FBBR 和 MBBR 同步运行的对比研究较少。

因此, 本研究将 FBBR 和 MBBR 并联于实际生产规模的墨瑞鳕(*Maccullochella peeli*) RAS 中, 通过二者的同步连续运行, 对比分析其出水水质变化和微生物群落结构, 以期对循环水养殖水质生物净化技术选择提供指导。

1 材料与方法

1.1 实验系统组成

如图 1 所示, 本研究采用的墨瑞鳕 RAS 主要由养殖池和循环水处理设施组成。养殖池由相同规格的 8 个水泥池构成; 每个池体长 7.0 m 、宽 7.0 m 、深 1.1 m , 有效容积为 49 m^3 ; 在各池底部均匀布设 4 根曝气管(长 4 m 、内径 2 cm)。采用罗茨鼓风机和液氧为养殖池增氧; 养殖池上方棚顶设置采光口, 光照度约为 $1\ 000\sim 1\ 500 \text{ lx}$ 。水处理设施包括转鼓式微滤机(1.3 kW , 雅亿, 南京)、泡沫分离器(0.55 kW , 海兴, 青岛)、变频式离心泵(5.5 kW , 银河, 南通)、FBBR、MBBR、增氧池(陶瓷纳米曝气板, 益品德, 苏州)和紫外消毒器(2.5 kW , 海兴, 青岛)。采用经过沉淀和过滤处理的地下深井水作为养殖用水。

FBBR 和 MBBR 均为推流式反应器, 其主体为相同规格的水泥池(长 18 m 、宽 3.33 m 、高 2.5 m , 水体有效容积为 120 m^3)。FBBR 采用悬挂在不锈钢支架

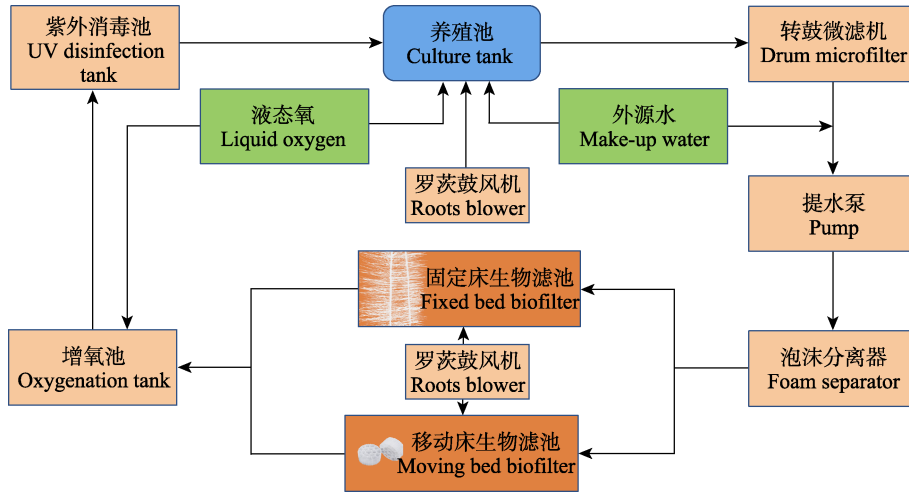


图1 墨瑞鲑循环水养殖系统工艺流程图

Fig.1 Flow chart of recirculating aquaculture system for *M. pealii*

上的弹性滤料(每根滤料丝条直径为 20 cm, 中心绳长为 2 m, 比表面积 $\geq 360 \text{ m}^2/\text{m}^3$)作为填料, 池体内滤料的布设密度为 16 根/ m^2 。MBBR 采用 PVC 多孔环作为填料(直径 4 cm, 厚度 25 mm, 比表面积 $\geq 1036 \text{ m}^2/\text{m}^3$), 池体内 PVC 多孔环的填充率为 40% (体积比), 在出水口设置填料拦截网。FBBR 和 MBBR 底部均匀布设曝气管, 通过罗茨鼓风机进行曝气。FBBR 和 MBBR 并联接入墨瑞鲑 RAS 中。

1.2 实验设计

本实验连续进行 35 d。实验开始前, 向养殖池中投放墨瑞鲑苗种, 放养密度为 200 尾/ m^3 。墨瑞鲑苗种采用由仔鱼培育而成的大规格幼体(平均体重为 36.02 g, 长江渔业渔歌, 安徽)。实验过程中, 每天 08:00 和 16:00 各向养殖池中投喂一次商品鱼专用配合饲料, 每日饲料投喂量约占鱼体总重的 1.2%~1.5%; 养殖水温度和溶解氧质量浓度分别控制在 28 °C 左右和 6.0 mg/L 以上; 每天向养殖池中补充养殖用水, 日补水量约占养殖池有效容积的 10%。养殖池出水依次经过微滤机和泡沫分离器处理后分成相同的两部分, 分别进入 FBBR 和 MBBR 进行生物净化, 二者出水经过增氧和紫外线消毒后回流到养殖池中。实验期间养殖池内水体的循环频次控制在 12 次/d。FBBR 和 MBBR 的进水流量均为 2 352 m^3/d , 空床水力停留时间为 1.63 h, 反应器内温度和溶解氧浓度保持与养殖池内相同水平。FBBR 和 MBBR 采用自然挂膜形式启动, 不向其中投加种泥(朱建新等, 2014)。实验过程中, 每天监测 FBBR 和 MBBR 中的水温和溶解氧浓度, 并采集出水样品, 测定其中水体中溶解性无机氮(DIN)浓度(即 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓

度); 实验结束时, 从反应器的进水端、中部和出水端采集等量的填料, 混合均匀后用于微生物群落结构检测, 每个生物膜反应器采集 3 个平行样(即 $n=3$)。

1.3 分析方法

1.3.1 水质分析 利用 YSI 水质分析仪(OH, 美国)对生物膜反应器中的水温和溶解氧进行原位检测。水样经过 0.45 μm 玻璃纤维滤膜过滤后, 分别采用 pH 计(pHS-3C, 雷磁, 上海)、靛酚蓝分光光度法、盐酸萘乙二胺分光光度法和锌镉还原法对 pH、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的浓度进行测定。具体参照《海洋监测规范-第 4 部分海水分析(GB17378-2007)》。

1.3.2 微生物高通量测序 按照 E.Z.N.A.[®] soil DNA Kit (Omega Bio-tek, Norcross, 美国)的操作程序提取填料样品表面的基因组 DNA, 并通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测所提取 DNA 的质量。利用带有标签(Barcode)的特异性引物(515F 和 806R)对基因组 DNA 中 16S rRNA 基因的 V4 多变区进行 PCR 扩增。PCR 产物经过检测、回收纯化后, 使用 TruSeq[®] DNA PCR-Free Sample Preparation Kit (Illumina, 美国)进行文库构建。文库合格后, 使用 HiSeq 2500 PE250 平台进行高通量测序。截取下机数据中的标签和引物序列后, 使用 FLASH 1.2.7 软件对样品读长(reads)进行拼接, 得到原始数据(raw tags); 利用 QIIME 1.9.1 软件对原始数据进行过滤处理, 得到高质量数据(clean tags); 通过 UCHIME Algorithm 将高质量序列与 Gold Database 数据库进行比对, 去除其中的嵌合体序列, 得到有效数据(effective tags)。使用 Uparse v7.0.1001 软件将所有有效数据聚类(相似度 97%)成为操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs); 使用 Mothur

方法将各个 OTU 的代表序列与 SILVA 的 SSUrRNA 数据库进行对比分析, 获取样品中微生物分类注释信息。利用 R 语言工具计算样品的 α 多样性指数(Chao1 指数、ACE 指数、Shannon 指数、Simpson 指数和测序覆盖率)。

2 结果与讨论

2.1 墨瑞鳕 RAS 中 FBBR 和 MBBR 出水水质变化

图 2 为 FBBR 和 MBBR 出水水质指标随实验时间的变化。对 FBBR 和 MBBR 出水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的浓度及 pH 分别进行单因素方差分析, P 值分别为 0.547、0.984、0.953 和 0.154, 均大于 0.05, 表明 FBBR 出水中各指标与 MBBR 无显著差异。然而, 本结果与以往研究结果不完全相同。Fernandes 等(2017)研究显示, FBBR 水体中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度均与 MBBR 存在明显差异。Pulkkinen 等(2019)研究表明, FBBR 水体中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度与 MBBR 无明显差异, 但二者 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度的差异显著。这可能是由养殖动物种类、饲料类型、投喂方式、反应器构造、环境条件、运行参数等方面的差异造成的。而且, 两反应器出水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度以及其在 DIN 中的占比呈现出相似的变化趋势。总体上看, DIN 浓度随实验时间延长而逐渐升高, 表明养殖过程中投喂的饲料可以向养殖水体中释放 DIN, 并且 DIN

会在 RAS 中逐渐积累。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度及其在 DIN 中的占比均呈现先上升后下降的趋势; $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度逐渐上升, 而 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 在 DIN 中的占比则先逐渐降低而后逐渐升高。FBBR 和 MBBR 出水中各指标的具体变化过程如下:

第 1—5 天, FBBR 和 MBBR 出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度均保持相对稳定, 表明这一阶段内投喂饲料未导致 RAS 中明显的 DIN 积累; 而且, 此阶段内 FBBR 和 MBBR 不具备硝化能力, 这是因为自然挂膜的速率较慢, 在实验初期形成的生物膜很少, 其中硝化菌的丰度也很低, 导致生物膜难以表现出显著的硝化能力, 相对稳定的 pH 值也印证了这一点。此外, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 在 FBBR 出水 DIN 中的占比分别在 14.83%~22.56%、4.66%~9.75% 和 68.54%~77.35% 范围内波动, 在 MBBR 出水 DIN 中的占比分别在 14.36%~20.27%、4.66%~10.46% 和 71.73%~75.62% 范围内波动, 表明 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 是预处理后深井水中 DIN 的主要形态。第 6—11 天, FBBR 和 MBBR 出水 DIN 浓度缓慢上升, 表明 RAS 中出现了 DIN 积累, 而且以往研究表明, 饲料释放到养殖水体中的 DIN 通常以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的形式存在(Dauda *et al.*, 2019)。FBBR 水体中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度分别由 0.35 和 0.14 mg/L 上升到 1.28 和 1.14 mg/L, MBBR 出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度分别由 0.35 和 0.15 mg/L 上升到 1.17 和 1.16 mg/L, 而且 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 在两反应器出水

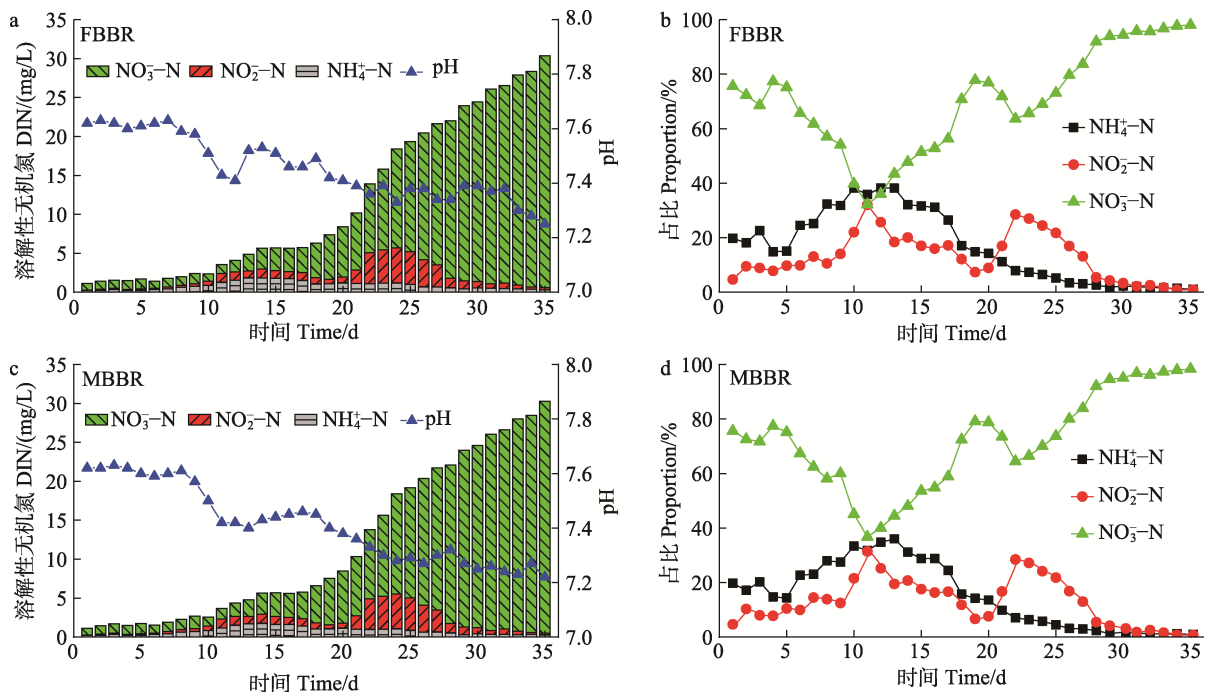


图 2 FBBR 和 MBBR 出水中 pH 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度的变化(a 和 c)以及其在 DIN 中的占比(b 和 d)
Fig.2 Variation of pH and the concentrations of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (a and c) and their proportions to the DIN in FBBR and MBBR effluents (b and d)

DIN 中的占比快速升高。FBBR 和 MBBR 水体的 NO_3^- -N 浓度分别在 0.94~1.29 mg/L 和 1.04~1.62 mg/L 范围内波动, NO_3^- -N 在 DIN 中的占比则快速降低。由此可见, 第 6—11 天, FBBR 和 MBBR 中的生物膜逐渐形成并具备了一定的硝化能力, 但此阶段的硝化作用以氨氧化为主, 亚硝酸氮氧化并不明显。这可能是因为, 在生物膜形成前期, 充足的 NH_4^+ -N 有利于氨氧化菌的较快生长, 使其在 FBBR 和 MBBR 中已达到一定数量, 可以将 NH_4^+ -N 转化为 NO_2^- -N, 但其氨氧化能力仅能部分去除养殖过程中产生的 NH_4^+ -N, 从而导致 NH_4^+ -N 的积累; 然而, NO_2^- -N 匮乏对亚硝酸氧化菌的生长不利, 致其在 FBBR 和 MBBR 中的数量很低, 难以将 NO_2^- -N 有效转化为 NO_3^- -N, 从而导致 NO_2^- -N 的积累。第 12—19 天, NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 浓度均缓慢下降, 其在 FBBR 出水 DIN 中的占比分别由 38.23% 和 25.68% 快速下降至 14.88% 和 7.36%, 在 MBBR 水体中 DIN 中的占比分别由 34.76% 和 25.21% 快速下降至 14.20% 和 6.65%; NO_3^- -N 浓度逐渐升高, 其在 FBBR 和 MBBR 出水 DIN 中的占比分别由 36.09% 和 40.04% 快速上升至 77.76% 和 79.15%。因此, 此阶段内两反应器中的生物膜渐趋成熟, 氨氧化能力进一步增强, NH_4^+ -N 去除速率逐渐超过养殖过程中 NH_4^+ -N 的释放速率, 从而使得养殖水体中的 NH_4^+ -N 逐渐减少; 而且, 亚硝酸氧化菌也达到了一定数量, 可以将 NO_2^- -N 转化为 NO_3^- -N, 解除了 NO_2^- -N 的积累。

可以推测, 第 19 天之后, 在运行状态不受到明显干扰的情况下, FBBR 和 MBBR 中的生物膜将完全成熟, 形成稳定的硝化能力, 使 NO_3^- -N 成为养殖水体中 DIN 的主要形态, NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 浓度始终保持在很低水平。然而, 第 20—28 天, NO_2^- -N 浓度及其在 DIN 中的占比呈先快速上升而后逐渐下降的趋势; NO_3^- -N 浓度逐渐升高, 但其在 DIN 中的占比先快速降低而后逐渐升高。产生这一波动的原因在于, 从第 20 天开始, 根据养殖需求提高了饲料投喂量, 导致 FBBR 和 MBBR 的氮负荷增加, 对其运行状态造成一定干扰。第 20—28 天, 两反应器出水 NH_4^+ -N 浓度并未出现明显的升高, 表明生物膜的氨氧化能力较为稳定, 具有一定的抗冲击负荷能力; 然而, 生物膜亚硝酸氮氧化能力尚未稳定, 抗冲击负荷能力较差, 需要进一步强化。第 29—35 天, 两反应器出水 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 浓度以及其在 DIN 中的占比均缓慢降低; NO_3^- -N 浓度及其在 DIN 的占比仍然逐渐升高。实验结束时, FBBR 出水 NH_4^+ -N、 NO_2^- -N 和 NO_3^- -N

浓度分别为 0.32、0.27 和 29.75 mg/L, 在 DIN 中的占比分别为 1.05%、0.90% 和 98.05%; MBBR 出水 NH_4^+ -N、 NO_2^- -N 和 NO_3^- -N 浓度分别为 0.29、0.22 和 29.76 mg/L, 在 DIN 中的占比分别为 0.96%、0.72% 和 98.32%。因此, 可以认为 FBBR 和 MBBR 中的生物膜基本成熟, 具备了稳定的硝化能力, 可以有效去除养殖水体中的 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N。此外, 第 6—35 天, FBBR 和 MBBR 水体 pH 分别由 7.62 和 7.59 逐渐下降至 7.25 和 7.22, 与 FBBR 和 MBBR 硝化能力的形成过程吻合。

综上所述, FBBR 和 MBBR 的硝化能力均经历了逐渐成熟的过程, 可以有效控制养殖水体中 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 的浓度, 但会导致 NO_3^- -N 积累和 pH 降低; 本研究条件下, 2 种反应器的硝化效率无显著差异。

2.2 墨瑞鳕 RAS 中 FBBR 和 MBBR 微生物群落分析

2.2.1 FBBR 和 MBBR 微生物多样性

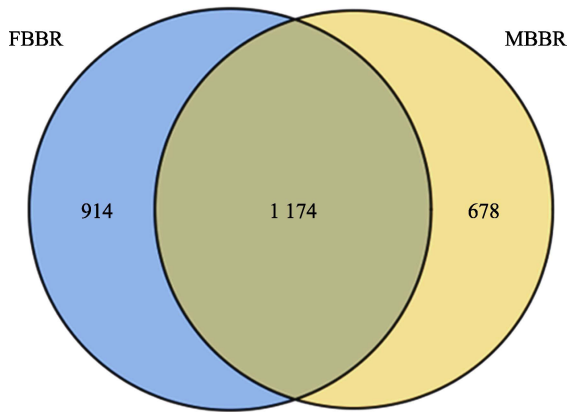
FBBR 和 MBBR 样品高通量测序的原始数据经过预处理后分别获得 51 614 和 43 156 条有效序列, 然后将其按照 97% 相似性阈值聚类为不同的 OTU。图 3 和表 1 分别为基于 FBBR 和 MBBR 样品中微生物 OTU 的韦恩图和 α 多样性指数。FBBR 和 MBBR 样品的测序覆盖率均超过了 0.98, 表明测序结果可以较好地反映样品中微生物群落的物种组成情况。从 FBBR 样品中共获得 2 088 个 OTU, 多于从 MBBR 样品中获得的 OTU 总数 (1 852), 二者共有的 OTU 数目为 1 174 (图 3); 而且 FBBR 样品的 Chao1 指数和 ACE 指数均大于 MBBR (表 1)。因此, FBBR 填料表面微生物群落的物种丰富度高于 MBBR。此外, FBBR 样品的 Shannon 指数高于 MBBR, Simpson 指数则低于 MBBR, 表明 FBBR 填料表面微生物群落多样性高于 MBBR, 与李倩等 (2016) 的研究结果相吻合。虽然 FBBR 和 MBBR 的进水流量、水质特征和运行条件均相同, 但相较于 FBBR, MBBR 内的扰动更加剧烈 (如水流和气流的剪切冲刷、填料之间的碰撞和摩擦等)。这种反应器内部环境的差异会对微生物起到一定的筛选作用 (例如, 附着能力较差的物种难以在 MBBR 中生长, 但 FBBR 可以为它们提供适宜的生长环境), 从而导致 FBBR 和 MBBR 填料表面微生物群落的物种丰富度和多样性存在差异 (Ruan *et al.*, 2015)。

2.2.2 FBBR 和 MBBR 微生物群落组成

图 4 为 FBBR 和 MBBR 填料表面微生物在门、纲和属水平上的群落结构。从 FBBR 样品中共注释出 16 个门, 相

表 1 FBBR 和 MBBR 填料表面微生物群落的 α 多样性指数($n=3$)Tab.1 α diversity indexes of microbial communities on the surfaces of fillers from FBBR and MBBR ($n=3$)

反应器 Reactor	覆盖率 Coverage	Chao1 指数 Chao1 index	ACE 指数 ACE index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index
FBBR	0.99	1 752.37±117.81	2 105.41±322.06	4.12±0.04	0.057±0.005
MBBR	0.99	1 597.00±33.21	1 891.60±150.38	3.11±0.05	0.237±0.009

图 3 基于 FBBR 和 MBBR 中微生物 OTU 的韦恩图($n=3$)Fig.3 Venn diagram based on microbial OTUs in FBBR and MBBR ($n=3$)

对丰度较高的有变形菌门(69.42%)、疣微菌门(Verrucomicrobia, 14.17%)、浮霉菌门(Planctomycetes, 6.09%)、拟杆菌门(Bacteroidetes, 3.61%)、硝化螺菌门(Nitrospiraceae, 2.19%)、酸杆菌门(Acidobacteria, 1.34%)和厚壁菌门(Firmicutes, 1.28%); 从 MBBR 样品中共注释出 19 个门, 相对丰度较高的有变形菌门(86.92%)、拟杆菌门(5.12%)、浮霉菌门(1.77%)、疣微菌门(1.70%)、厚壁菌门(1.33%)、酸杆菌门(1.10%), 因此, 变形菌门成为 FBBR 和 MBBR 填料表面生物膜中相对丰度最高的细菌门类, 这与蔺凌云等(2017)的研究结果一致。在 FBBR 样品中共注释出 28 个纲, 其中, γ -变形菌纲、 α -变形菌纲、疣微菌纲(Verrucomicrobiae)、海藻球形菌纲(Phycisphaerae)、浮霉菌纲(Planctomycetia)、硝化螺菌纲(Nitrospira)、鞘脂杆菌纲(Sphingobacteriia)、 β -变形菌纲(β -proteobacteria)、芽孢杆菌纲(Bacilli)和 Acidobacteria-Gp6 纲的相对丰度较高, 分别为 40.71%、26.58%、13.89%、3.29%、2.71%、2.19%、1.88%、1.56%、1.26%和 1.11%; 在 MBBR 样品中共注释出 31 个纲, 其中, γ -变形菌纲、 α -变形菌纲、黄杆菌纲(Flavobacteriales)、疣微菌纲、浮霉菌纲和芽孢杆菌纲的相对丰度较高, 分别为 64.36%、21.74%、3.86%、1.53%、1.43%和 1.31%。由此可见, γ -变形菌纲和 α -变形菌纲为在 FBBR 和 MBBR 生物膜中占主导地位的菌纲, 这与 Wietz 等(2009)的研究结果吻合。值得注

意的是, 本研究结果与以往研究报道不完全相同。例如, 李倩等(2016)研究发现, FBBR 和 MBBR 中的相对丰度最高的细菌门类分别为变形菌门(34.78%)和厚壁菌门(61.62%)。蔺凌云等(2017)研究表明, β -变形菌纲是 FBBR 和 MBBR 中相对丰度最高的优势菌纲。这可能是由实验系统构成、运行条件、养殖动物种类、饲料种类和投喂方式等方面的差异造成的(Schreier *et al.*, 2010)。在 FBBR 样品中共注释出 149 个属, 主要有不动杆菌属(27.50%)、黄体菌属(*Luteolibacter*, 12.67%)、罗氏杆菌属(*Rhodobacter*, 5.67%)、芽孢杆菌属(*Gemmobacter*, 5.05%)、海仙菌属(*Haliea*, 3.61%)、脱氟单胞菌属(*Defluviimonas*, 3.50%)、气单胞菌属(*Aeromonas*, 3.10%)、中高温球形菌属(*Tepidisphaera*, 2.90%)、硝化螺菌属(2.19%)、假单胞菌属(*Pseudomonas*, 2.07%)、假黄单胞菌属(*Pseudoxanthomonas*, 1.20%)、柠檬酸杆菌属(*Citrobacter*, 1.17%)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*, 1.15%)、生丝微菌属(*Hyphomicrobium*, 1.13%)、Gp6 (1.11%)和副土壤杆菌属(*Parasetibacter*, 1.07%); 在 MBBR 样品中共注释出 155 个属, 主要有不动杆菌属(53.29%)、气单胞菌属(6.22%)、鞘脂单胞菌属(*Novosphingobium*, 3.91%)、罗氏杆菌属(3.51%)、脱氟单胞菌属(3.22%)、芽孢杆菌属(2.29%)、金黄杆菌属(*Chryseobacterium*, 2.16%)、假单胞菌属(1.66%)、黄杆菌属(*Flavobacterium*, 1.60%)、生丝微菌属(1.21%)、鞘氨醇杆状菌属(*Sphingorhabdus*, 1.06%)和柠檬酸杆菌属(1.01%)。因此, 不动杆菌属在 FBBR 和 MBBR 生物膜中均是优势菌属。而且, MBBR 生物膜中不动杆菌属的相对丰度远高于 FBBR 中, 印证了前面关于生物膜反应器内环境不同导致其微生物多样性差异的论断。不动杆菌属具有良好的附着生长特性, 容易在填料表面形成生物膜(Fang *et al.*, 2002; Wagner *et al.*, 2002)。因此, MBBR 中剧烈的扰动提高了不动杆菌属对其他菌属的竞争优势, 使其在生物膜中占有很高的比例; FBBR 相对温和的扰动也可为其他菌属提供适宜的生长环境, 导致不动杆菌属的竞争压力增大。

FBBR 和 MBBR 生物膜中硝化菌相对丰度如表 2 所示。2 种生物膜反应器样品中注释出的硝化菌均为亚硝化单胞菌属和硝化螺菌属, 这与蔺凌云等(2017)和张皓天等(2020)的研究结果一致。可以看出, FBBR

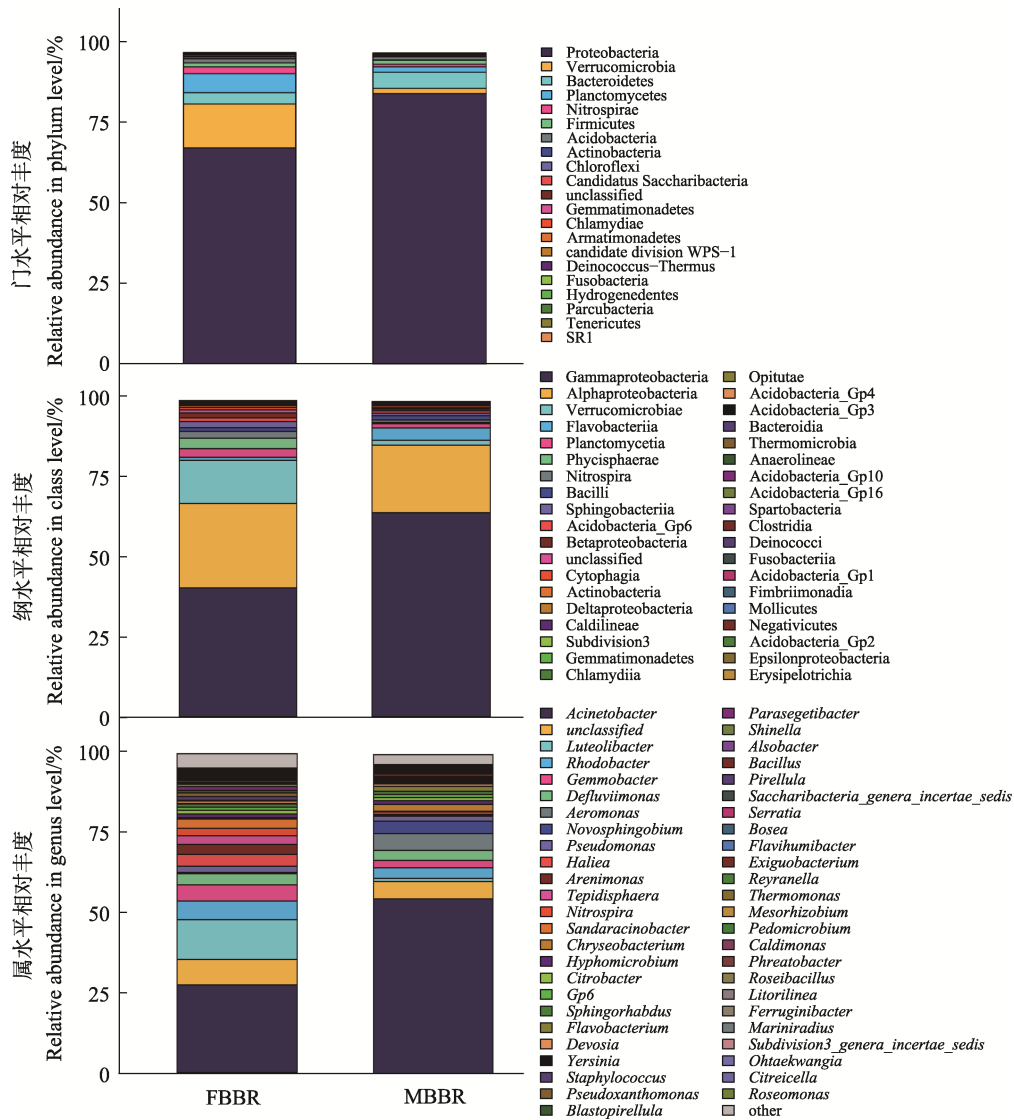


图 4 FBBR 和 MBBR 的微生物群落结构(n=3)

Fig.4 Microbial community structures in FBBR and MBBR (n=3)

和 MBBR 生物膜中硝化菌相对丰度都较低,这是因为硝化菌属于化能自养菌,生长较缓慢,且对环境因子比较敏感(Chen *et al.*, 2006)。但是,反应器的运行效果(图 2)表明,在生物膜中硝化菌可以与其他菌和谐共存,并发挥稳定的硝化能力。MBBR 生物膜中硝化菌的相对丰度明显低于 FBBR,但二者的硝化效果较为接近(图 2)。这可能是因为,虽然 MBBR 中较为剧烈的扰动不利于硝化菌的附着生长,但可以增强溶解氧、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 等在生物膜内的传质,对硝化反应有利。作为典型的氨氧化菌和亚硝酸氧化菌,亚硝化单胞菌属与硝化螺菌属广泛存在于各种自然环境及人工硝化系统中(Ge *et al.*, 2015)。传统的硝化理论认为, $\text{NH}_4\text{-N}$ 先被氨氧化菌转化为 $\text{NO}_2\text{-N}$,而后被亚硝酸氧化菌转化为 $\text{NO}_3\text{-N}$;根据硝化过程中的电子转移可

以估算,正常运行的硝化系统中氨氧化菌和亚硝酸氧化菌的理论数量比为 2 (Winkler *et al.*, 2012)。但在 FBBR 和 MBBR 生物膜中,亚硝化单胞菌属与硝化螺菌属的数量占比分别为 0.04 和 0.07,远小于理论值,这是通过传统硝化理论难以解释的。近几年研究发现,硝化螺菌属中的一些种类(如 *Candidatus Nitrospira inopinata*、*Candidatus Nitrospira nitrosa* 和 *Candidatus Nitrospira nitrificans*)能够独立完成从 $\text{NH}_4\text{-N}$ 到 $\text{NO}_2\text{-N}$ 再到 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的氧化过程(即完全氨氧化)(Ren *et al.*, 2020)。因此,在 FBBR 和 MBBR 生物膜中可能存在能够进行完全氨氧化的硝化螺菌属种类,其可以与亚硝化单胞菌属竞争 $\text{NH}_4\text{-N}$ 基质,从而导致硝化螺菌属数量明显高于亚硝化单胞菌属。两生物膜反应器生物膜中完全氨氧化菌的种类和丰度仍需进一

步探究。此外,在水产养殖过程中,弧菌往往作为致病菌或者条件致病菌存在,因而成为一项备受关注的微生物指标。在 FBBR 和 MBBR 生物膜中均未

检测到弧菌属,表明 2 种生物膜反应器都不存在弧菌积累的风险。由表 2 可知, FBBR 和 MBBR 生物膜中均存在一定数量的蛭弧菌属(*Bdellovibrio*)。

表 2 FBBR 和 MBBR 填料表面硝化菌和蛭弧菌属的相对丰度($n=3$)

Tab.2 Relative abundance of nitrifiers and *Bdellovibrio* on the surfaces of fillers from FBBR and MBBR ($n=3$)

反应器 Reactor	亚硝化单胞菌属 <i>Nitrosomonas</i>	硝化螺菌属 <i>Nitrospira</i>	蛭弧菌属 <i>Bdellovibrio</i>
FBBR	(0.080±0.022)%	(2.187±0.159)%	(0.137±0.017)%
MBBR	(0.058±0.017)%	(0.863±0.095)%	(0.093±0.019)%

综上所述,在微生物群落方面, FBBR 和 MBBR 的相同点在于具有相似的优势菌群,硝化菌由亚硝化单胞菌属与硝化螺菌属构成,且硝化螺菌属的相对丰度高于亚硝化单胞菌属;不同点在于 FBBR 微生物群落的丰富度和多样性以及硝化菌的相对丰度高于 MBBR。

3 结论

在自然挂膜过程中, FBBR 和 MBBR 中氨氧化能力的形成快于亚硝酸氮氧化能力,硝化能力渐趋成熟,可以有效控制养殖水体中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度,但会产生养殖水体中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 积累和 pH 下降; FBBR 和 MBBR 出水中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度和 pH 无显著差异,两反应器的硝化效率相似。

在微生物群落方面, FBBR 和 MBBR 不同点为 FBBR 中微生物群落的丰富度和多样性均高于 MBBR; FBBR 和 MBBR 相同点为优势菌群相似,优势菌门为变形菌门,优势菌纲为 γ -变形菌纲和 α -变形菌纲,优势菌属为不动杆菌属;硝化菌均由亚硝化单胞菌属和硝化螺菌属构成,且硝化螺菌属的相对丰度远高于亚硝化单胞菌属。

4 展望

目前,对于 RAS 中 FBBR 和 MBBR 水质净化表现的优劣问题尚未形成统一认识。本研究水质分析结果表明, FBBR 和 MBBR 的硝化效率无明显差异,都可以有效控制实际生产的墨瑞鳕 RAS 水体中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度。然而,微生物群落分析表明, FBBR 的微生物丰富度和多样性均明显高于 MBBR。由此可以推测, FBBR 对于污染物和有毒物质的冲击负荷具有较强抵抗力(Pedersen *et al.*, 2015)。但是, FBBR 容易受到水动力特征和堵塞的影响(Pulkkinen *et al.*, 2019),而 MBBR 对于水力冲击具有很好的适应性,不易堵塞。因此,在养殖实践中,应在综合考虑养殖动物种类、饲料类型和投喂方式、水质要求、环境条件、场地和设备限制等因素的基础上,选择采用 FBBR

或 MBBR。在本研究中, FBBR 和 MBBR 均在相对稳定的工况下运行,水质特征(污染物浓度、颗粒物含量、有毒物质含量等)和运行参数(HRT、温度等)对其净化效能的影响尚不清楚,有待于进一步研究。此外, FBBR 和 MBBR 会导致养殖水体中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 积累和 pH 降低;过高浓度的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 会对鱼类的摄食、死亡、繁殖和内分泌系统产生重要影响(Guillette *et al.*, 2005; Hamlin *et al.*, 2008; Good *et al.*, 2016),而且 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 排放可能导致或者加剧受纳水体的富营养化;过低的 pH 不仅会抑制微生物硝化反应(Chen *et al.*, 2006),还会严重威胁养殖鱼类的健康。因此, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的高效去除和水体 pH 的稳定调控值得深入研究。

因此,下一步研究工作将围绕以下四方面展开:研究水质条件和运行参数对 FBBR 和 MBBR 净化效能的影响,重点关注两反应器对冲击负荷的抵抗力;明确 FBBR 和 MBBR 填料表面完全氨氧化菌的种类和丰度;在 FBBR 和 MBBR 后接入适当的微生物反硝化工艺,去除硝化反应产生的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$,实现对养殖水体总氮的有效控制;探究适用于 FBBR 和 MBBR 的碱度缓冲剂,抵消硝化反应产生的酸度,实现对养殖水体 pH 的稳定调控。

参 考 文 献

- CHEN S L, LING J, BLANCHETON J P. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. *Aquacultural Engineering*, 2006, 34(3): 179–197
- CRAB R, AVNIMELECH Y, DEFOIRDT T, *et al.* Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture*, 2007, 270(1/2/3/4): 1–14
- DAUDA A B, AJADI A, TOLA-FABUNMI A S, *et al.* Waste production in aquaculture: Source, components and managements in different culture systems. *Aquaculture and Fisheries*, 2019, 4: 81–88
- FAN H P, XUE L Z, CHEN Y H, *et al.* Acute toxicity of ammonia nitrogen and nitrite to juvenile spiny eel *Mastacembelue armatus* (Lacepe`de, 1800). *Chinese Journal of Fisheries*, 2018, 31(3): 25–28 [樊海平, 薛凌展, 陈玉红, 等. 氨氮及

- 亚硝酸盐对大刺鲃幼鱼的急性毒性. 水产学杂志, 2018, 31(3): 25–28]
- FANG H H P, ZHANG T, LIU Y. Characterization of an acetate-degrading sludge without intracellular accumulation of polyphosphate and glycogen. *Water Research*, 2002, 36(13): 3211–3218
- FERNANDES P M, PEDERSEN L F, PEDERSEN P B. Influence of fixed and moving bed biofilters on micro particle dynamics in a recirculating aquaculture system. *Aquacultural Engineering*, 2017, 78: 32–41
- GE S J, WANG S Y, YANG X, *et al.* Detection of nitrifiers and evaluation of partial nitrification for wastewater treatment: A review. *Chemosphere*, 2015, 140: 85–98
- GOOD C, DAVIDSON J. A review of factors influencing maturation of Atlantic salmon, *Salmo salar*, with focus on water recirculation aquaculture system environments. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2016, 47(5): 605–632
- GREINER A D, TIMMONS M B. Evaluation of the nitrification rates of microbead and trickling filters in an intensive recirculating tilapia production facility. *Aquacultural Engineering*, 1998, 18(3): 189–200
- GUERDAT T C, LOSORDO T M, CLASSEN J J, *et al.* An evaluation of commercially available biological filters for recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 2010, 42(1): 38–49
- GUILLETTE Jr L J, EDWARDS T M. Is nitrate an ecologically relevant endocrine disruptor in vertebrates? *Integrative and Comparative Biology*, 2005, 45(1): 19–27
- HAMLIN H J, MOORE B C, EDWARDS T M, *et al.* Nitrate-induced elevations in circulating sex steroid concentrations in female Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) in commercial aquaculture. *Aquaculture*, 2008, 281(1/2/3/4): 118–125
- KUHN D D, SMITH S A, BOARDMAN G D, *et al.* Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. *Aquaculture*, 2010, 309(1/2/3/4): 109–114
- LI Q, HU T J, LIU S L, *et al.* Depuration of the aquaculture wastewater by three kinds of biological fillers in recirculating aquaculture system. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2017, 45(1): 243–245 [李倩, 胡廷尖, 刘士力, 等. 循环水养殖系统中 3 种生物填料对水质的净化作用. *江苏农业科学*, 2017, 45(1): 243–245]
- LI Q, HU T J, XIN J M, *et al.* Analysis of bacterial community compositions in three biological filter media by 16S rRNA gene library. *Journal of Dalian Ocean University*, 2016, 31(4): 384–389 [李倩, 胡廷尖, 辛建美, 等. 应用 16SrRNA 基因文库技术分析 3 种生物填料上生物膜的细菌群落组成. *大连海洋大学学报*, 2016, 31(4): 384–389]
- LIN L Y, YIN W L, PAN X Y, *et al.* The study of natural biofilm formation for nitrogen removal from aquaculture wastewater and analysis on microbial community in biofilm. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, 41(6): 1327–1335 [蔺凌云, 尹文林, 潘晓艺, 等. 自然微生物挂膜处理水产养殖废水的效果及微生物群落分析. *水生生物学报*, 2017, 41(6): 1327–1335]
- LIU H, GUAN C W, NI Q, *et al.* Analysis of factors of water treatment with biofilm sequence batch reactor in recirculating aquaculture systems. *South China Fisheries Science*, 2008, 4(4): 55–59 [刘晃, 管崇武, 倪琦, 等. 生物膜法 SBR (BSBR) 在循环养殖水处理中影响因素分析. *南方水产*, 2008, 4(4): 55–59]
- PEDERSEN L F, OOSTERVELD R, PEDERSEN P B. Nitrification performance and robustness of fixed and moving bed biofilters having identical carrier elements. *Aquacultural Engineering*, 2015, 65: 37–45
- PULKKINEN J T, ERIKSSON-KALLIO A M, AALTO S L, *et al.* The effects of different combinations of fixed and moving bed bioreactors on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth and health, water quality and nitrification in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 2019, 85: 98–105
- REN Y, NGO H H, GUO W S, *et al.* New perspectives on microbial communities and biological nitrogen removal processes in wastewater treatment systems. *Bioresource Technology*, 2020, 297: 122491
- RUAN Y J, GUO X S, YE Z Y, *et al.* Bacterial community analysis of different sections of a biofilter in a full-scale marine recirculating aquaculture system. *North American Journal of Aquaculture*, 2015, 77(3): 318–326
- SCHREIER H J, MIRZOYAN N, SAITO K. Microbial diversity of biological filters in recirculating aquaculture systems. *Current Opinion in Biotechnology*, 2010, 21(3): 318–325
- SCHULER D J, BOARDMAN G D, KUHN D D, *et al.* Acute toxicity of ammonia and nitrite to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at low salinities. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2010, 41(3): 438–446
- STEWART N T, BOARDMAN G D, HELFRICH L A. Characterization of nutrient leaching rates from settled rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) sludge. *Aquacultural Engineering*, 2006, 35(2): 191–198
- SUHR K I, PEDERSEN P B. Nitrification in moving bed and fixed bed biofilters treating effluent water from a large commercial outdoor rainbow trout RAS. *Aquacultural Engineering*, 2010, 42(1): 31–37
- VERDEGEM M C J, BOSMA R H, VERRETH J A J. Reducing water use for animal production through aquaculture. *International Journal of Water Resources Development*, 2006, 22(1): 101–113
- WAGNER M, LOY A. Bacterial community composition and function in sewage treatment systems. *Current Opinion in Biotechnology*, 2002, 13(3): 218–227
- WANG G Y, MA F, LI W G, *et al.* Removal of ammonium-N from marine recirculating aquaculture by immobilized

- nitrifiers. *Journal of Harbin Institute of Technology*, 2009, 41(10): 78–81 [王光玉, 马放, 李维国, 等. 固定化硝化菌在养鱼废水处理中的应用. *哈尔滨工业大学学报*, 2009, 41(10): 78–81]
- WIETZ M, HALL M R, HØJ L. Effects of seawater ozonation on biofilm development in aquaculture tanks. *Systematic and Applied Microbiology*, 2009, 32(4): 266–277
- WINKLER M K H, BASSIN J P, KLEEREBEZEM R, *et al.* Unravelling the reasons for disproportion in the ratio of AOB and NOB in aerobic granular sludge. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 94: 1657–1666
- ZHANG H T, SONG X F, LIU X Z, *et al.* Dynamic response of microbial community to water quality change in biofilter for recirculating aquaculture system of *Oplegnathus punctatus*. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2020, 14(8): 2176–2185 [张皓天, 宋协法, 刘兴震, 等. 斑石鲷循环水养殖系统生物滤池微生物群落对水质变化的动态响应. *环境工程学报*, 2020, 14(8): 2176–2185]
- ZHANG J L, JIANG M, WANG C F, *et al.* Microbial diversity in bio-filter of the recirculating aquaculture system for *Litopenaeus vannamei*. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(5): 73–82 [张健龙, 江敏, 王城峰, 等. 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)循环水养殖塘挂膜式生物滤器内微生物的多样性. *渔业科学进展*, 2017, 38(5): 73–82]
- ZHAO Y, LIU Y, LI X, *et al.* Optimization design and experiment of moving bed biofilm reactor in industrialized recirculating aquaculture system. *Journal of Dalian Ocean University*, 2018, 33(5): 639–643 [赵越, 刘鹰, 李贤, 等. 工业化循环水养殖系统移动床生物膜反应器的设计. *大连海洋大学学报*, 2018, 33(5): 639–643]
- ZHU J X, LIU H, XU Y, *et al.* Dual-culture techniques for the rapid start-up of recirculating aquaculture system. *Progress in Fishery Sciences*, 2014, 35(4): 118–124 [朱建新, 刘慧, 徐勇, 等. 循环水养殖系统生物滤器负荷挂膜技术. *渔业科学进展*, 2014, 35(4): 118–124]
- ZOHAR Y, TAL Y, SCHREIER H J, *et al.* Commercially feasible urban recirculating aquaculture: Addressing the marine sector. *Urban Aquaculture*, 2005, 159

(编辑 马瑾艳)

Comparative Investigation of Water Treatment Performance and Microbial Communities in Different Biofilm Reactors of a Recirculating Aquaculture System for *Maccullochella peeli*

ZHANG Long¹, LI Gang¹, WANG Qinglong¹, HAN Feng¹, QU Keming²,
ZHU Jianxin^{2①}, LIU Zhihao³, WANG Lu^{3①}

(1. National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries, Beijing 100125, China;
2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;
3. Laoshan Laboratory, Qingdao 266237, China)

Abstract With the development of the aquaculture industry for high efficiency, energy saving, and environmentally friendly methods, recirculating aquaculture has attracted increasing attention from researchers and practitioners. A recirculating aquaculture system (RAS) consists primarily of an aquaculture module and a water purification module. In the aquaculture module, nitrogen in the feed could be released into the water phase through various routes (i.e., the feedstuff residue and aquaculture animal excretion), whose species can be transformed by microbes. Free ammonia and nitrite have acute toxic effects on aquaculture animals, rendering the efficient removal of ammonia and nitrite essential for the RAS. Compared with physical and chemical methods, biological treatment methods based on microbial nitrification can convert ammonia and nitrite into less toxic nitrate with the advantages of good treatment performance, low operation cost, and little secondary contamination, and have been widely utilized in the purification of multiple wastewaters (e.g., municipal wastewater, industrial wastewater, agricultural wastewater, and ammonia-contaminated groundwater). For the

① Corresponding author: ZHU Jianxin, E-mail: zhuix@ysfri.ac.cn; WANG Lu, E-mail: lwang@qnlm.ac

treatment of recirculating water with low and fluctuating nitrogen loads, a biofilm process based on the attached growth of microbes is more suitable than an activated sludge process based on the suspended growth of microbes. To date, a variety of biofilm processes have been developed, among which the fixed-bed biofilm reactor (FBBR) and moving-bed biofilm reactor (MBBR) have been widely investigated for the control of ammonia and nitrite in aquaculture wastewater. However, the relevant studies were mostly conducted in laboratory- and pilot-scale RASs. Thus, there is still a lack of comparative investigations of FBBR and MBBR, which are simultaneously operated in a full-scale RAS.

Therefore, a parallel FBBR and MBBR were joined to a full-scale RAS for *Maccullochella peeli*. The FBBR and MBBR were simultaneously and continuously operated for 35 d to investigate variations in their water quality and microbial community structures. The results indicate that the FBBR and MBBR had similar variations in ammonia, nitrite, nitrate, and pH in the effluents. Over the entire operational period, the dissolved inorganic nitrogen (DIN) concentrations gradually increased; the ammonia and nitrite concentrations and their proportions in DIN first increased and then decreased stepwise; and the nitrate concentrations increased gradually, while the variation in the nitrate proportions in DIN was opposite to that of ammonia and nitrite. Both the FBBR and MBBR could transform ammonia and nitrite to nitrate, which resulted in nitrate accumulation and a pH decrease in aquaculture water. During the operation period, the nitrification capacity gradually matured, and ammonia oxidation could occur prior to nitrite oxidation. At 35 d, the concentrations of ammonia, nitrite and nitrate were 0.32 (0.29), 0.27 (0.22) and 29.75 (29.76) mg/L with their proportions in DIN of 1.05% (0.96%), 0.90% (0.72%) and 98.05% (98.32%) in FBBR (MBBR) effluent; pH declined from 7.62 (7.59) to 7.25 (7.22) in FBBR (MBBR) effluent.

The number of operational taxonomic units (OTU) obtained from the FBBR and MBBR samples were 2,088 and 1,852, respectively, and 1,174 OTUs were shared between FBBR and MBBR. The α indices (Chao1, ACE, Shannon, and Simpson) from the biofilm reactors indicated that FBBR possessed higher richness and diversity of the microbial community than MBBR, which could be attributed to the difference in the internal environment between FBBR and MBBR. In total, 16 phyla, 28 classes, and 149 genera were identified in the FBBR samples, which were slightly fewer than those from the MBBR samples (i.e., 19 phyla, 31 classes, and 155 genera). However, the relative abundance of microbes demonstrated that FBBR and MBBR had similar predominant microbes: *Proteobacteria* (69.42% in FBBR and 86.92% in MBBR) at the phylum level, γ -*Proteobacteria* (40.71% in FBBR and 64.36% in MBBR) and α -*Proteobacteria* (26.58% in FBBR and 21.74% in MBBR) at the class level, and *Acinetobacter* (27.50% in FBBR and 53.29% in MBBR) at the genus level. *Nitrosomonas* and *Nitrospira* constituted the nitrifiers in both FBBR and MBBR, but the relative abundance of nitrifiers was higher in FBBR. Furthermore, the relative abundance of *Nitrospira* was far higher than that of *Nitrosomonas*, indicating that complete ammonia oxidation bacteria might exist in FBBR and MBBR. In addition, *Vibrio* was not found in FBBR and MBBR, but *Bdellovibrio* was observed. The results of this study can provide technical support for the selection of biological purification technology for RAS, and thus improve the green development of the aquaculture industry.

Future studies will focus on: Investigating the effects of water quality conditions and operational parameters on the water treatment performance of FBBR and MBBR; Determining the species of complete ammonia oxidation bacteria and their relative abundances on the filler surface in FBBR and MBBR; Effectively eliminating nitrate in the aquaculture water by introducing microbial denitrification process after FBBR and MBBR to control the total nitrogen in RAS; Establishing a flexible and feasible strategy for controlling the pH in recirculating water by exploring the solid-phase buffers that could serve as the slow-release sources of alkalinity in the biofilm reactor.

Key words Recirculating aquaculture system; Fixed-bed biofilm reactor; Moving-bed biofilm reactor; Nitrification reaction; Microbial community